



## Hémocultures : adultes et pédiatriques (Hors hémocultures fongiques)

Par voie périphérique, cathéter artériel, voie veineuse centrale.

Rédacteurs : Collège de Bactériologie et collège d'Hygiène hospitalière.

*Les hémocultures permettent le diagnostic des bactériémies (présence de bactéries dans le sang). Elles sont performantes si :*

- *La quantité de sang prélevée est correcte → respecter les consignes de remplissage décrites ci-dessous,*
- *Le prélèvement n'est pas contaminé → respecter les règles d'antiseptie décrites ci-dessous,*
- *Le flacon est lisible par l'automate → respecter la bonne position de l'étiquette patient comme indiqué ci-dessous.*

### I- Contexte :

Les principales indications des hémocultures sont :

- Les fièvres d'origines indéterminées, notamment en cas de signes évocateurs d'infections
  - o Pics fébriles ou hypothermie (fièvre >38,5°C ou <36,5°C),
  - o Frissons,
  - o Choc.
- Les suspicions d'infections sur cathéters,
- La surveillance du risque infectieux chez les nouveaux nés ou chez les patients immunodéprimés (greffe, leucémie, neutropénie, etc.) où les hémocultures peuvent être prescrites en « systématique ».

Les Hémocultures ont pour but de diagnostiquer une bactériémie, par un prélèvement veineux effectué dans des conditions aseptiques. Elles permettront :

- L'isolement et/ou l'identification du (des) micro-organisme(s) responsable(s) d'une bactériémie,
- La détermination de la sensibilité aux anti-infectieux du (des) micro-organisme(s) responsable(s) d'une bactériémie.

Cependant, la quantité de bactéries présente dans le sang au cours d'une bactériémie est faible, parfois inconstante : la sensibilité de l'examen **dépend DIRECTEMENT du volume de sang prélevé**. Les techniques microbiologiques utilisées sont donc **extrêmement sensibles**, pouvant parfois mettre en évidence des **bactéries commensales de la flore cutanée** en cas de **désinfection cutanée préalable insuffisante** ou en cas de prélèvement sur un cathéter (flore de colonisation du cathéter).

Les hémocultures doivent être prélevées :

- si possible avant tout traitement anti-infectieux,
- avant les autres échantillons de sang pour éviter les contaminations.
- Par ponction veineuse directe préférentiellement (sauf en cas de diagnostic de bactériémie à point de départ accès vasculaire)



Sauf circonstances particulières (Endocardites Infectieuses, persistance de la fièvre malgré un traitement antibiotique adapté, etc.), il n'est pas nécessaire de prélever des hémocultures plusieurs jours de suite : prélever 4 à 6 flacons en 1 journée.

## II- Matériel :

Se reporter à la liste du matériel de prélèvement figurant dans ce manuel pour déterminer le type de flacons d'hémocultures utilisés par votre centre de biologie. Pour mémoire :

**ATTENTION, toujours vérifier la date de péremption des flacons avant usage.**

Type de patients	Adulte	Pédiatrie Enfants jusqu'à 10kg	Mycobactéries (Adultes et enfant ≥11 ans)	Mycobactéries (Enfant <11 ans)
Type de Flacons	1 paire d'hémocultures = - 1 flacon aérobie BacT/ALERT® - + 1 flacon anaérobie BacT/ALERT®	1 flacon pédiatrique BacT/ALERT®	Tube Isolator® 10mL	Tube Isolator® 1,5mL
Nombre de flacons	4 à 6 flacons soit 2 à 3 paires d'hémoculture	1 à 2 flacons pédiatriques	1 tube	1 tube

En complément du système de ponction utilisé pour les prélèvements sanguins ; utiliser le ou les systèmes suivants :

- Dans tous les cas : utiliser la « tulipe » ou capot de protection BacT/ALERT® adaptée aux flacons BacT/ALERT®,



- Si le prélèvement d'hémocultures est suivi de prélèvements sanguins : utiliser le réducteur BacT/ALERT® permettant le bon positionnement des tubes Vacutainer® dans la « tulipe » ou capot de protection BacT/ALERT®.



Pour le matériel d'antisepsie, se reporter aux recommandations fournies par l'Unité d'Hygiène de votre établissement et aux protocoles en vigueur dans votre service de soins.

**Cas du diagnostic des infections sur Dispositif Intra Vasculaire (DIV).**

**ATTENTION, toujours vérifier la date de péremption des flacons avant usage.**



Méthodologie utilisée	Technique des « hémocultures différentielles ou appariées » selon Brun-Buisson <i>et al.</i>
Matériel nécessaire	<b>2 paires d'hémocultures</b> = - 2 flacons aérobies BacT/ALERT® - + 2 flacons anaérobies BacT/ALERT® Prélever en même temps : - 1 paire sur le DIV - 1 paire par ponction veineuse directe

### III- Quantité nécessaire :

#### III-1. Adultes :

Type de Flacons	BacT/ALERT® Aérobie	BacT/ALERT® Anaérobie
Volume Optimal	10mL	10mL
Volume Minimal	5mL	5mL
Volume Maximal	10mL (ne pas dépasser sinon risque de faux positif)	10mL (ne pas dépasser sinon risque de faux positif)

#### III-2. Enfant de moins de 12,7 kg :

Utiliser le flacon BacT/ALERT® PF Pédiatrique EXCLUSIVEMENT.

Poids de l'enfant	≤ 1 kg	1,1 à 2 kg	2,1 à 12,7 kg	>12,7 kg
Volume Optimal	1 à 2mL	1,5 à 4,5 mL	3 à 6mL soit faire 2 flacons	Utiliser les flacons adultes BacT/ALERT® Aérobie et Anaérobie
Volume Minimal	1mL	1mL	1mL	
Volume Maximal	4mL	4mL	4mL	

#### III-3. Mycobactéries :

Type de Flacons	Adultes et enfants ≥11 ans : Tube Isolator® 10mL	Enfants <11 ans : Tube Isolator® 1,5mL
Volume Optimal	10mL	1,5mL
Volume Minimal	8mL	1mL
Volume Maximal	10mL	1,5mL

### IV- Méthodologie :

#### IV-1. Données générales : nombres de flacons, moment du prélèvement



- **Nombre de flacons : 2 à 3 paires d'hémocultures (1 à 2 flacons chez l'enfant de moins de 12,7kg) par période de 24 heures** (réparties dans la journée ou prélevées en une fois), avant toute antibiothérapie,
- **Moment du prélèvement**
  - o Si fièvre discontinue : prélever au moment des frissons et lors de l'ascension thermique,
  - o Si fièvre continue : le moment du prélèvement importe peu,
  - o Indépendamment de la courbe thermique : prélever alors **2 à 3 paires d'hémocultures au cours d'un même acte** de prélèvement,
  - o Prélever systématiquement les hémocultures le plus tôt possible dans l'évolution de la maladie,
  - o S'il y a persistance du syndrome infectieux sans diagnostic établi, une **fenêtre des thérapeutiques antibiotiques de 48 heures** minimum peut être réalisée sur prescription médicale avant d'entreprendre une nouvelle série de 2 à 3 paires d'hémocultures.

#### **IV-2. Cas standard : la procédure recommandée est réalisée par ponction veineuse directe (Adultes et enfants) :**

- **Le prélèvement est réalisé :**
  - o Par ponction veineuse directe au pli du coude chez l'adulte
  - o Chez nouveau-né et nourrisson, par ponction via la veine épicroténienne, veine du coup de pied, veine ombilicale, etc.
- Respecter les précautions Standard : désinfection des mains et port de gants
- Une antiseptie en 5 temps est réalisée sur le lieu de ponction : Détergence avec savon antiseptique, rinçage, séchage, antiseptie avec antiseptique alcoolique et séchage spontané de l'antiseptique en accord avec les recommandations fournies par l'Unité d'Hygiène de votre établissement et aux protocoles en vigueur dans votre service de soins,
- Une désinfection des bouchons des flacons d'hémoculture doit être faite avec une compresse imbibée d'antiseptique alcoolique.
- Si le prélèvement d'hémocultures a lieu en même temps que d'autres prélèvements sanguins,
  - o TOUJOURS commencer par les hémocultures,
  - o **TOUJOURS prélever le flacon AEROBIE puis le flacon ANAEROBIE.**

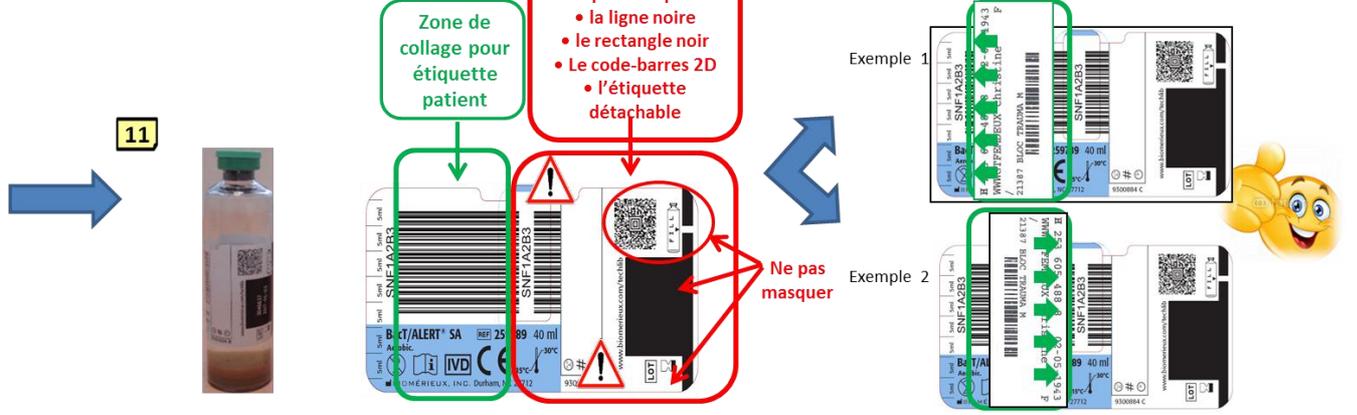
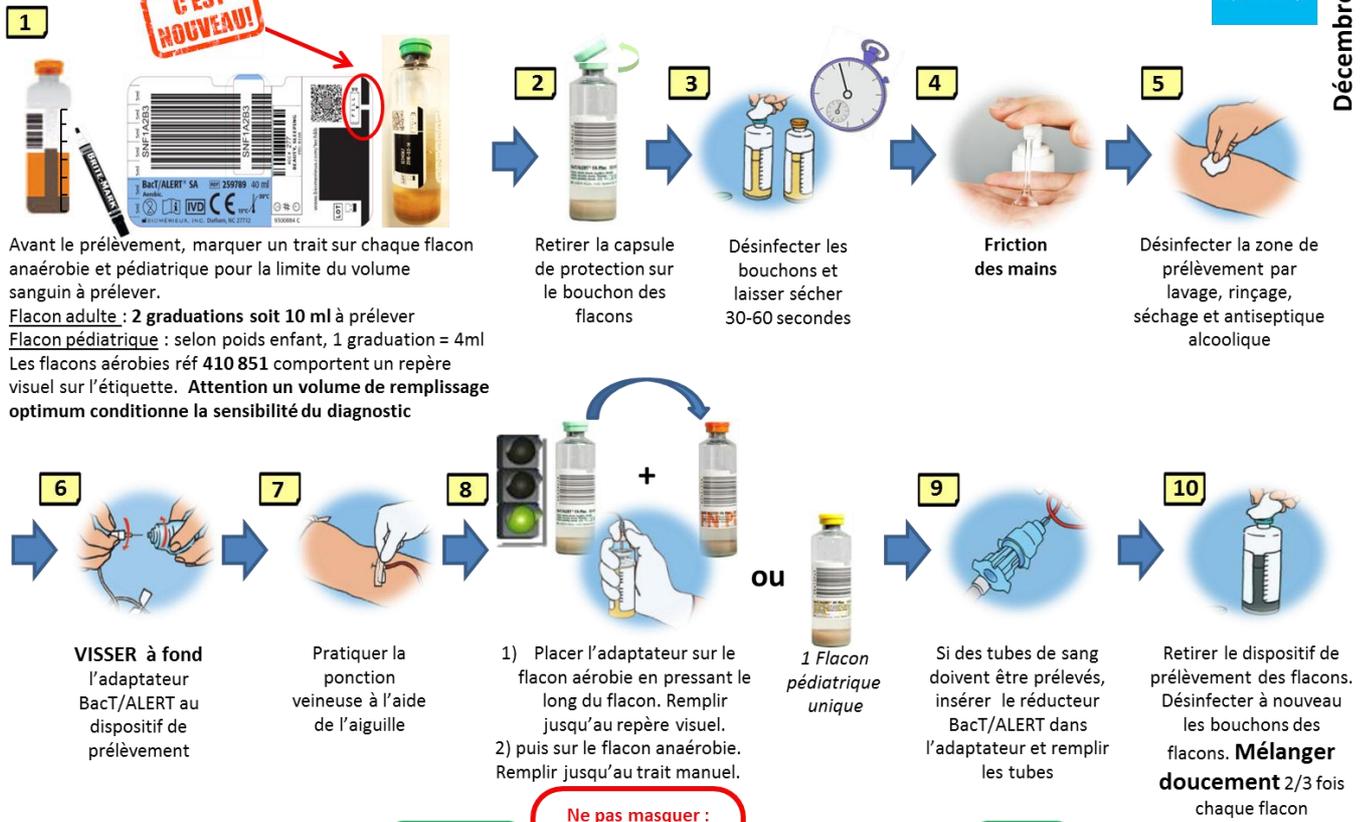
Les étapes détaillées de la procédure de prélèvement des hémocultures par ponction veineuse directe sont représentées ci-après (Figure 1) :



**Hémoculture par ponction veineuse directe - LBMMS**



Décembre 2017





### **IV-3. Cas des prélèvements à la seringue :**

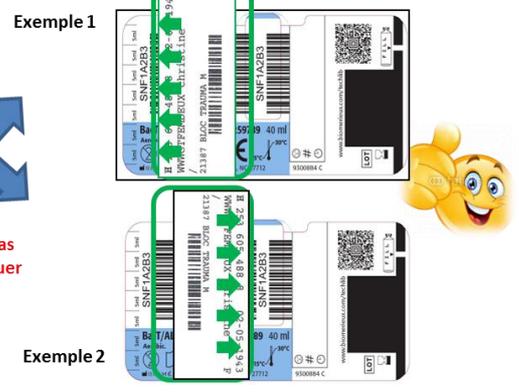
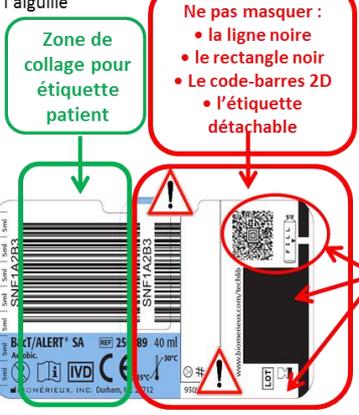
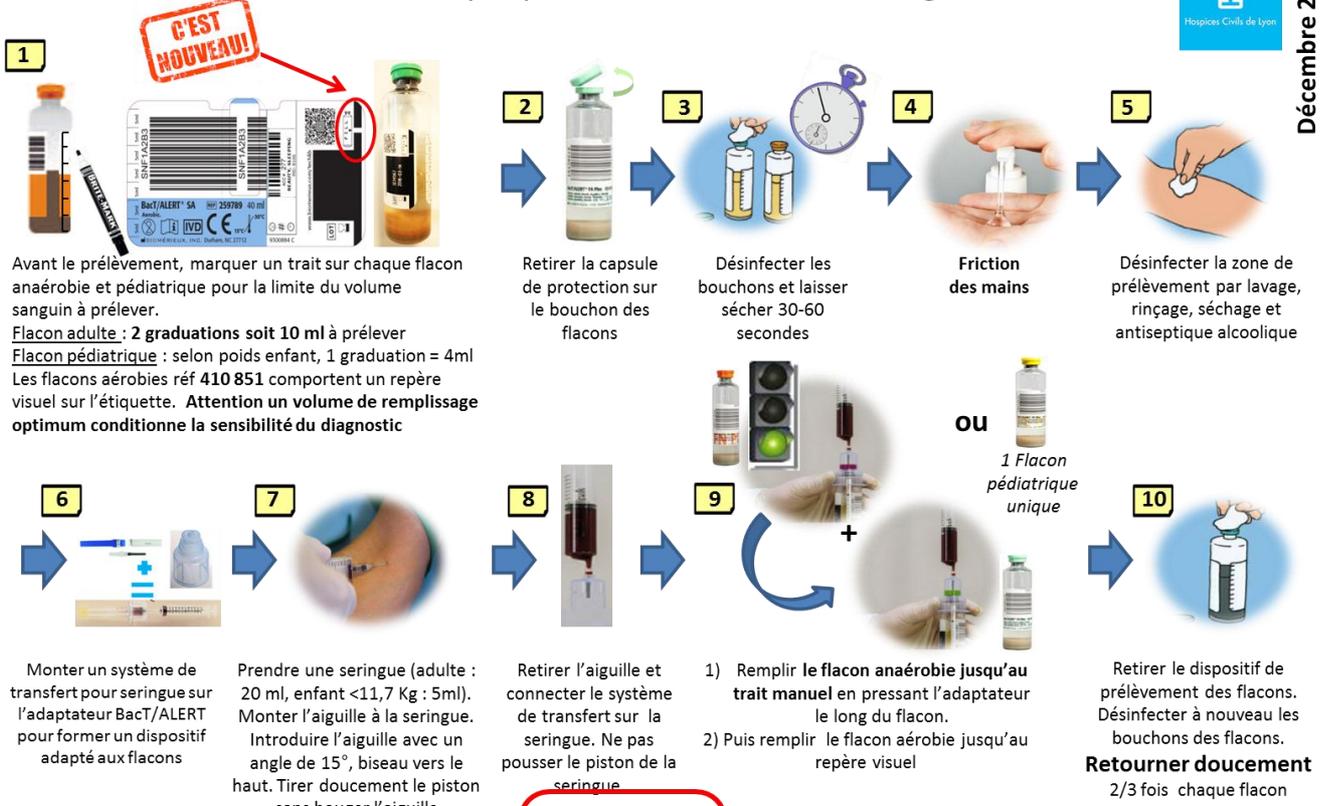
Dans certains cas, notamment chez les nouveaux nés, chez les enfants ou en cas de veines difficiles, les hémocultures peuvent être prélevées à l'aide d'une seringue.

- **Le prélèvement est réalisé à l'aide :**
  - o *Chez l'adulte* : **une seringue de 20mL** (prélever **IMPERATIVEMENT 20mL** pour une paire d'hémocultures pour introduire **10mL** de sang dans chacun des flacons),
  - o *Chez nouveau-né et nourrisson* : **une seringue de 5mL** (prélever le volume de sang en fonction du poids du nouveau-né ou du nourrisson comme indiqué ci-dessus).
- Une **antisepsie en 5 temps** est réalisée sur le lieu de ponction : savonnage, rinçage, essuyage, antisepsie et séchage de l'antiseptique en accord avec les recommandations fournies par l'Unité d'Hygiène de votre établissement et aux protocoles en vigueur dans votre service de soins
- Une désinfection des bouchons des flacons d'hémoculture doit être faite avec un antiseptique alcoolique.
- Si ce prélèvement d'hémoculture a lieu en même temps que d'autres prélèvements sanguins,
  - o TOUJOURS commencer par les hémocultures
  - o ATTENTION, dans ce cas, **TOUJOURS remplir 1) le flacon ANAEROBIE puis 2) le flacon AEROBIE avec le sang prélevé.**

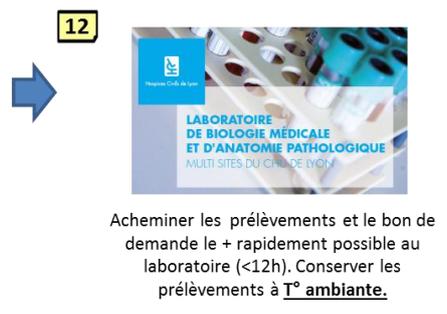
Les principales étapes du prélèvement sont détaillées dans la procédure de prélèvement des hémocultures à l'aide d'une seringue représentées ci-après (Figure 2) :



**Hémoculture par ponction veineuse à la seringue - LBMMS**



Identifier les prélèvements.  
Coller les étiquettes dans le sens de la longueur des flacons en alignant le haut de l'étiquette sur la limite de collage.  
Noter **la date et l'heure de prélèvement**. Remplir et identifier le bon de commande « Microbiologie 24/24 »





#### **IV-4. Prélèvement sur Dispositif Intra Vasculaire (DIV)**

- ***Nature des Dispositif Intra vasculaire (DIV)***

Dispositifs intra-vasculaire : voie veineuse centrale (VVC), chambre implantable (CIP), Canaux, Cathéter artériel, etc.

- ***Cas des patients à capital veineux limité***

Face à des patients à capital veineux limité, notamment en réanimation, les hémocultures peuvent être prélevées sur DIV :

- Appliquer les mêmes étapes que décrites dans la Figure 1 pour la préparation des flacons, le montage du dispositif de prélèvement et l'étiquetage des flacons,
- Effectuer le prélèvement sur le DIV en accord avec les recommandations fournies par l'Unité d'Hygiène de votre établissement et aux protocoles en vigueur dans votre service de soins.

- ***Diagnostic des infections sur DIV par la technique des « hémocultures différentielles ou appariées »***

Le diagnostic d'infection sur cathéter peut être réalisé par la technique des « hémocultures différentielles ». Cette méthode repose sur le calcul de la différence entre les délais de positivité des hémocultures prélevées sur dispositif intravasculaire et des hémocultures prélevées par ponction veineuse directe. Pour cela, les 2 paires d'hémocultures doivent être réalisées en même temps (<10 minutes) en prélevant le **même volume** de sang dans :

- 1- Une paire d'hémoculture prélevée en périphérique comme décrit dans la **Figure 1**.
- 2- Une paire d'hémoculture prélevée sur DIV :
  - Appliquer les même étapes que décrites dans la **Figure 1** pour la préparation des flacons, le montage du dispositif de prélèvement et l'étiquetage des flacons
  - Effectuer le prélèvement sur le DIV en accord avec les recommandations fournies par l'Unité d'Hygiène de votre établissement et aux protocoles en vigueur dans votre service de soins.

**IMPORTANT :**

- Bien identifier les 2 paires d'hémocultures (DIV et périphériques).
- Remplir impérativement le bon de demande « Microbiologie 24/24 » en cochant le code **« NHAPP4 hémocultures appariées »**

Si le délai différentiel de positivité entre Hémoculture sur DIV et Hémoculture Périphérique est :

- **>2 heures** : l'infection sur DIV peut être affirmée,
- **≤2 heures** : l'infection sur DIV peut être exclue.



#### **IV-5. Cas de l'Endocardite Infectieuse (EI)**

En cas de suspicion d'endocardite infectieuse, **réaliser un « kit EI »**.

Ce kit EI est disponible auprès des CARF de votre centre de biologie.

Ce kit comprend notamment 3 paires d'hémocultures :

- **Les 2 des 3 paires d'hémocultures et les tubes présents dans le kit** peuvent être réalisés en même temps lors d'un prélèvement unique par ponction veineuse périphérique comme décrit dans la **Figure 1**.
- **La dernière paire d'hémoculture doit être réalisée, au minimum 30 minutes après les 2 premières**, lors d'un prélèvement par ponction veineuse périphérique comme décrit dans la **Figure 1**.
- Remplir le bon de demande d'examen du Kit EI en précisant bien **« Kit EI »**.

En cas de **négativité des 3 premières paires à 48 heures**, prélever à **nouveau 3 paires d'Hémocultures** comme décrit précédemment dans la **Figure 1**.

En l'absence de kit EI :

- Prélever 3 paires d'hémocultures comme décrit ci- dessus dans le kit EI.
- Préciser **IMPERATIVEMENT** sur le bon de demande le **contexte d'endocardite infectieuse** afin que la durée d'incubation des flacons soit prolongée à 10 jours,

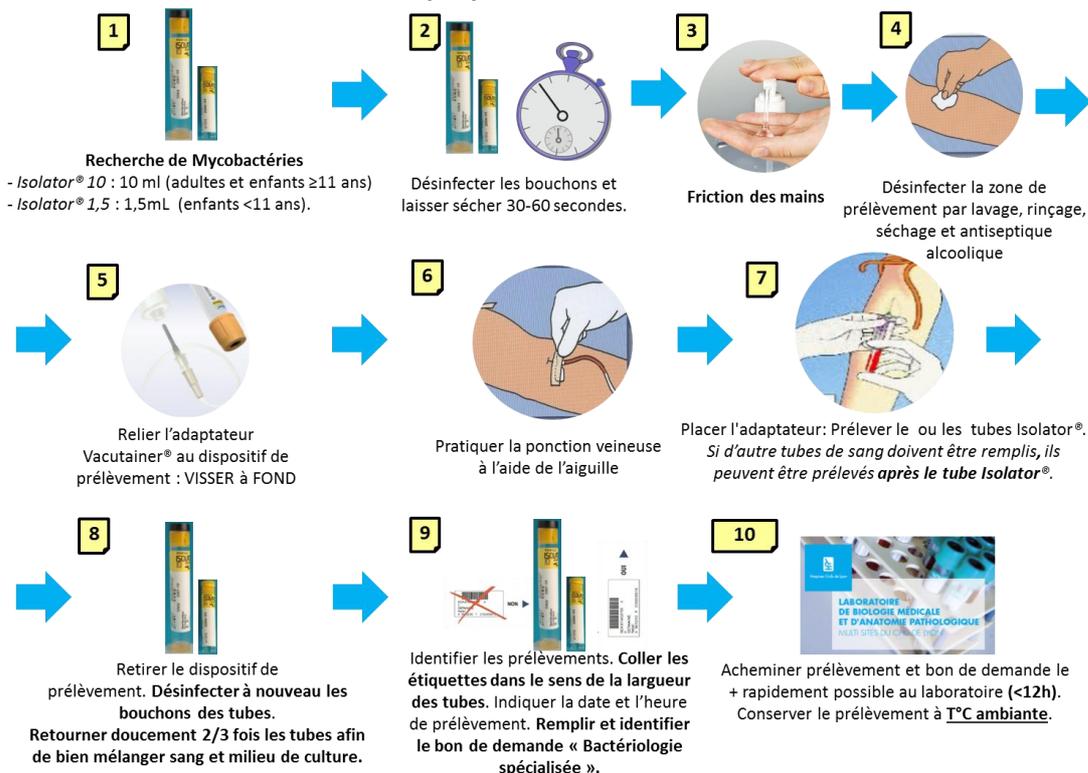
#### **IV-6. Recherche des Mycobactéries dans le sang**

Prélever sur :

- *Isolator*<sup>®</sup> 10 : 10 ml pour les adultes et enfants ≥11 ans
- *Isolator*<sup>®</sup> 1,5 : 1,5mL pour les enfants <11 ans.
- Le prélèvement s'effectue exactement de la même façon que pour les flacons d'hémocultures. La **Figure 3** rappelle les différentes étapes du processus.



**Prélèvement des tubes Isolator® par ponction veineuse directe – LBMMS – Janvier 2017**



- ATTENTION, la désinfection rigoureuse du bouchon de caoutchouc du tube doit être effectuée avec un tampon d'alcool 70 % EXCLUSIVEMENT. Ne pas utiliser de la povidone car elle peut endommager le septum.

**V- Acheminement :**

Transmettre les flacons d'hémocultures BacT/ALERT® ou les tubes Isolator® et les bons de demande d'examen de biologie médicale le plus rapidement possible au **Centre de biologie et pathologie Nord – Plateau de Microbiologie 24/24** :

- Par pneumatique : les flacons BacT/ALERT® sont compatibles avec les pneumatiques sous réserve de ne **mettre qu'au maximum 4 flacons (soit 2 paires d'hémoculture) par sac parachute**.
- Par tous les autres moyens à votre disposition (ramassage, coursier, dépôt direct au laboratoire).

En cas d'envoi différé au laboratoire de Bactériologie, conserver :

- Les flacons BacT/ALERT® **à température AMBIANTE (NE PAS METTRE à l'ETUVE)** et transmettre les flacons dans un délai maximum de **12 heures**,
- Les tubes Isolator® **à température AMBIANTE (NE PAS METTRE à l'ETUVE)** et transmettre les tubes dans un délai maximum de **12 heures**.

Ne jamais réfrigérer les flacons d'hémocultures.



## VI- Prise en charge au laboratoire de bactériologie du LBMMS :

Dès réception au laboratoire de bactériologie du centre de biologie en charge de votre service, les flacons sont mis à incuber dans un automate à détection en continue pour une durée de

- **5 jours,**
- **10 jours** en cas de kit EI.

Tout flacon détecté positif est traité par le laboratoire de bactériologie 7 jours sur 7 et 24 heures sur 24. Le résultat définitif est transmis à la fin de la période d'incubation.

## VII- Références :

- Référentiel en Microbiologie Médicale (REMIC) – 2015 (5ème édition) – Société Française de Microbiologie Ed ; 2015 : p.125-144..
- European Manual of Clinical Microbiology (EMCM) – Edition 2012 (1<sup>st</sup> edition) – European Society of Clinical Microbiology and Infectious Disease (ESCMID); 2012: p. 101-121.
- Documentations BD Pré analytics concernant les systèmes de prélèvements Vacutainer® et de transfert LuerLock®.
- Notices fournisseur BioMérieux des flacons BacT/ALERT® Plus.
- Notices fournisseur BioMérieux des adaptateurs pour flacons BacT/ALERT® Plus.
- Notice fournisseur Oxoid des tubes Isolator®.
- Document bioMérieux « Procédure de prélèvement direct des flacons d'hémocultures BacT/ALERT® - juillet 2007.
- Blot F, Nitenberg G, Chachaty E, Raynard B, Germann N, Antoun S, Laplanche A, Brun-Buisson C, Tancrede C. - Diagnosis of catheter-related bacteraemia: a prospective comparison of the time to positivity of hub-blood versus peripheral-blood cultures. - Lancet. 1999 Sep 25;354(9184):1071-7.
- SF2H- Antisepsie de la peau saine avant un geste invasif chez l'adulte Recommandations pour la pratique Clinique –Volume XXIV - N° 2 - Mai 2016